

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA
1957, 6, 115-132

J. Brill i S. Gołębiowski

SZCZEPY *BRUCELLA SUI*
WYDZIELONE ZE ŚWIŃ PO RAZ PIERWSZY W POLSCE *

Z Wojewódzkiego Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Łodzi i Katedry Mikrobiologii
Wydziału Weterynaryjnego SGGW w Warszawie

Wpłynęło 20 lutego 1957 r.

W gospodarstwie uspołecznionym T prowadzony jest chów świń od roku 1953. Świnie zgrupowane są w chlewni macior, liczącej 50 macior i 3 knury, oraz w chlewni tuczników — liczącej około 170 sztuk świń. Oproszczenia macior w jesieni 1953 r. i na wiosnę 1954 r. przebiegały normalnie, oproszczenia zaś jesienne 1954 r. dały duże straty w postaci bardzo licznych przypadków poronień, które według informacji kierownictwa fermy wystąpiły u 44 macior przeważnie w drugim miesiącu ciąży. Na wiosnę 1955 r. ponownie stwierdzono liczne przypadki poronień.

Przeprowadzone przez nas kompleksowe badania rozpoznawcze w gospodarstwie T w kierunku brucelozy wykazały zakażenie pałeczkami *Brucella* bydła, koni, świń, psów i ludzi. Szczegóły tych badań podaliśmy w publikacji przekazanej do druku w Rocznikach Nauk Rolniczych, Sekcja Weterynaryjna, 1956 r. (Brill i Gołębiowski 1957). Z poronionych cieląt wydzielono szczep *Brucella abortus*.

Stopień nasilenia brucelozy wśród zwierząt domowych i ludzi gospodarstwa T oraz wśród dzikich gryzoni, odłowionych na terenie gospodarstwa (szczury), względnie odstrzelonych na terenach okolicznych (zające), stwierdzony badaniami serologicznymi i bakteriologicznymi, przedstawia tabela I.

* Odnosne szczepy oznaczone jako *Brucella suis*, Łódź 1, Łódź 4, znajdują się w Kolekcji Drobnoustrojów Polskiej Akademii Nauk pod sygnaturą 730/56/1 i 731/56/4.

MATERIAŁY

W roku 1955 przebadano bakteriologicznie i biologicznie: 1) 8 płodów poronionych, pochodzących od 2 macior, 2) narządy wewnętrzne i węzły chłonne maciory poddanej ubojowi z konieczności, a reagującej serologicznie dodatnio w kierunku brucelozy, 3) jądra od 3 kastrowanych knurów, reagujących serologicznie ujemnie, 4) narządy wewnętrzne i węzły chłonne warchlaka, poddanego ubojowi diagnostycznemu, reagującego serologicznie ujemnie, 5) narządy wewnętrzne i węzły chłonne maciory, poddanej ubojowi diagnostycznemu, która poroniła i reagowała serologicznie dodatnio, 6) wypływ z dróg rodnych 1 maciory, reagującej serologicznie dodatnio, 7) narządy wewnętrzne i węzły chłonne 15 macior poddanych ubojowi normalnemu po wytuczeniu, z których to macior serologicznie dodatnio reagowało 6, wątpliwie 2, ujemnie 7.

METODYKA BADAŃ

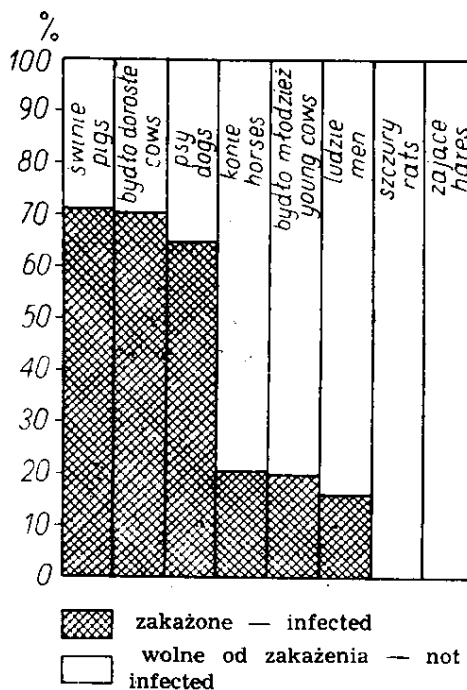
1. Badania bakteriologiczne

Do badań bakteriologicznych używano podłoży stałych i płynnych. Jako podłoża stałe stosowano: agar wątrobowy o pH 7,0 z dodatkiem 2% glicerolu i 1% glikozy; agar odżywczy o pH 7,0 z dodatkiem 1% glikozy i 5% jałowej surowicy końskiej inaktywowanej w temperaturze 56° w ciągu 30 minut. Jako podłoże płynne stosowano: bulion odżywczy z dodatkiem 1% glikozy i 5% surowicy końskiej inaktywowanej, pH pożywki 7,0.

Materiał do badań wysiewano jednocześnie na podłoża stałe i płynne; zasiane podłoża inkubowano w temperaturze 37° w warunkach: a) zwiększonego ciśnienia CO₂ oraz b) normalnego ciśnienia atmosferycznego. Czas inkubacji na podłożach płynnych wynosił 7 dni, po czym dokonywano przesiewu z podłoża płynnego na podłoże stałe. Czas inkubacji podłoży stałych wynosił 21 dni.

Tabela I

Nasilenie brucelozy w populacji ludzi i zwierząt domowych oraz dzikich gryzoni w PGR „T” — w procentach
Brucellosis among men and animals in State Estate „T”. Per cent of infected among examined groups



2. Próby biologiczne

Równolegle do badań bakteriologicznych prowadzono badania biologiczne wyżej wymienionych materiałów. Do badań tych używano świńek morskich; w celu wykluczenia u świńek brucelozy pobierano od nich przed zakażeniem krew do badań serologicznych. Skontrolowane w ten sposób świnki morskie zakażano podskórnie rozcierem narządów wewnętrznych, rozcierem węzłów chłonnych, względnie rozcierem gruczołów płciowych lub zawartością żołądków płodów poronionych. Z reguły zastrzykiwano 0,8 do 1 ml zawiesiny badanych tkanek lub płynów. Począwszy od trzeciego tygodnia po zakażeniu, co pewien czas, przeciętnie co dwa tygodnie, kontrolowano krew zakażonych świńek morskich na obecność swoistych zlepników dla szczepów *Brucella*. Odczyn zlepnego ustawiano w rozcieńczeniach surowicy od 1:5 do 1:80, względnie do wysokości miana. Jako antygeny używano zawiesinę zabitych pałeczek *Brucella* (szczep Weybridge 99) produkcji Instytutu Weterynarii w Puławach.

Czas obserwacji zakażonych świńek morskich wynosił 12 tygodni. Świnki morskie reagujące dodatnio usypiano, po czym przeprowadzano dokładne badania anatomo-patologiczne oraz bakteriologiczne organów mięsnych i węzłów chłonnych.

3. Określanie typu *Brucella*

Rozpoznawanie i typowanie wydzielonych przez nas w primokulturze szczepów *Brucella* oparto na badaniach morfologicznych, biochemicznych i serologicznych. Zgodnie z zaleceniami Komisji Ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia (1950) różnicowanie typów *Brucella* uwzględniało zapotrzebowanie dwutlenku węgla, wytwarzanie H_2S , aktywność ureazy, klasyczne testy bakteriostatyczne z użyciem zasadowych barwników anilinowych, test zahamowania wzrostu przez dwuetylotiokarbaminian sodu według Renoux. Dla określenia struktury antygenowej szczepów stosowano jednoswoiste surowice anty-*abortus* i anty-*melitensis*.

4. Formy *S* i *R*.

Do typowania używaliśmy wyłącznie szczepów postaci *S* ze względu na to, że postać *R* może dawać mylne wyniki. Do różnicowania form *S* i *R* stosowaliśmy test akryflawinowy, według B e n d t s e n a (1954). Używano neutralnej akryflawiny produkcji Firmy Abbott z Chicago.

5. Zapotrzebowanie na CO_2

Jak wiadomo, poszczególne typy *Brucella* różnią się swoimi wymaganiami, jeśli chodzi o wzrost na podłożach sztucznych. *Brucella suis* i *B. melitensis* nie wymagają do wzrostu zwiększonego cząstkowego ciśnienia CO_2 , gdy tymczasem dla uzyskania primokultury *Brucella abortus* bezpośrednio z materiału potrzebne jest z reguły zwiększone ciśnienie cząst-

kowe bezwodnika węglowego. Moment ten znalazł w naszych badaniach pełne uwzględnienie.

6. Wytwarzanie H_2S

Typy *Brucella* różnią się między sobą zdolnością do wytwarzania H_2S . Cecha ta nie jest jednak stała dla poszczególnych typów *Brucella*. W celu wykazania tej cechy badane szczepy wysiewaliśmy na agar skośny odżywczy o pH 6,8 z dodatkiem 1% glikozy i 5% inaktywowanej surowicy końskiej. Po wysiewie szczepu na agar umieszczaliśmy w probówce na głębokości około 3 cm poniżej korka wyjąłowany pasek bibuły, namoczony uprzednio w 10-procentowym roztworze wodnym octanu ołowiu i z kolei wysuszony. Czas obserwacji rozciągał się na 5 dni.

7. Aktywność ureazy

Próba typowania pałeczek *Brucella* przez określenie aktywności ureazy opiera się na tym, że szczepy *B. suis* posiadają bardziej aktywną ureazę aniżeli szczepy *B. abortus* i *B. melitensis*. Do próby tej używaliśmy podłoża o pH 7,0 (według Picketta i współpracowników):

mocznik 4,0 g,
dwuzasadowy fosforan sodu 0,1 g,
jednozasadowy fosforan potasu 0,1 g,
czerwień fenolowa 0,002 g,
woda destylowana 100,0 ml.

Do gęstej zawiesiny 48-godzinnej hodowli *Brucella* w 0,85% NaCl (5.10^9 bakterii w 1 ml) w ilości 1 ml, dodawaliśmy w równej ilości opisaną powyżej podłożę — wskaźnik, pozostawiając całość w temperaturze pokojowej. Zmiana barwy podłoża z żółtej (słomkowej) na czerwoną wskazuje na działanie ureazy i rozkład mocznika. Aktywność ureazy określa się czasem potrzebnym do wystąpienia zmiany zabarwienia podłoża. Szczegóły zachowania się szczepów typowych i badanych ujęte są w tabeli II.

8. Działanie bakteriostatyczne barwików

Do wykazania bakteriostatycznych własności barwików w stosunku do badanych szczepów używaliśmy fuksyny zasadowej, tioniny, fioletu metylowego, pyroniny B, dwuetylotiokarbaminianu sodu. W badaniach bakteriostatycznych stosowaliśmy metodę Cruickshanka, posługując się paskami z bibuły filtracyjnej napojonej roztworami poszczególnych barwików, oraz metodą Picketta i współpracowników, posługując się tabelkami barwikowymi.

Metoda Cruickshanka. Na dnie wyjąłowanej płytki Petriego umieszcza się 2 paski cienkiej bibuły filtracyjnej o szerokości 5 mm, wyjąłowane i nasyczone: jedno — wodnym roztworem fuksyny zasadowej 1 : 300, drugie — wodnym roztworem tioniny 1 : 800 (*Thioninum purum*

G., Gröbler and Co, Lipsk). Przed umieszczeniem w płytkach paski należy wysuszyć. Wodne roztwory barwików powinny być wyjałowione w aparacie Kocha. Oba paski umieszcza się na dnie płytki równolegle w odległości 6 cm. Następnie paski zalewa się podłożem na grubość około 6 mm. Jako podłoże stosowaliśmy agar odżywczy o pH 7,0 z dodatkiem 1% glikozy i 5% inaktywowanej surowicy końskiej. Na tak przygotowane podłoże wysiewano badany szczep w postaci zawiesiny o mniej więcej jednakowej ilości bakterii w 1 ml. W tym celu badany szczep wysiewano uprzednio na skośny agar odżywczy o składzie wyżej podanym i po 48 godzinach inkubowania zawieszano spłukaną masę hodowli bakteryjnej w płynie fizjologicznym, ustalając gęstość na 3 miliony bakterii w 1 ml. Z kolei 1 oczko (średnica 2 mm) zawiesiny drobnoustrojów wysiewano na przygotowane podłoże barwikowe, prostopadle do przebiegu pasków. Na jednej płytce badano jednocześnie 3 szczepy.

Metoda Picketta. Typowanie szczepów przeprowadziliśmy według techniki podanej przez Bendtsena i przy pomocy tabletek barwikowych nadesłanych przez Dr. Christiansena, a wyprodukowanych przez firmę Roskilde Medical Company Ltd. Dania. Jako podłoża używaliśmy „Tryptone Glucose Extract Agar, Difco” o pH 7,0. Płytki z podłożem przed wysiewem szczepu umieszczaliśmy na 2 dni w termostacie o temperaturze 37° w celu wysuszenia. Szczepy określano w warunkach wzrostu przy normalnym ciśnieniu tlenu i w warunkach zwiększonego ciśnienia CO₂. Badane szczepy wysiewaliśmy na agar skośny i dopiero z niego przesiewaliśmy na przygotowane w uprzednio podany sposób płytki. Badany szczep zawieszaliśmy w płynie fizjologicznym i z kolei 0,1 ml zawiesiny o gęstości 10¹⁰ bakterii w 1 ml umieszczaliśmy na środku płytki z podłożem, po czym dokładnie rozcieraliśmy na całej powierzchni podłoża. Pośrodku płytki umieszczano tabletkę barwikową, po jednej na każdą płytkę, po czym wstawiano płytki na 1 dzień do chłodni o temperaturze 4°, następnie przenoszono płytki na 5 dni do termostatu o temperaturze 37°. Wynik badania odczytywaliśmy przez pomiar w mm średnicy strefy zahamowania wzrostu bakterii. Używaliśmy 5 różnych tabletek barwikowych o średnicy 9 mm i grubości 1 mm. Poszczególne tabletki zawierały: a) 1,80 mg fuksyny zasadowej, b) 1,72 mg tioniny, c) 0,415 mg fioletu metylowego 2B, d) 0,08 mg pyroniny B, e) 1 mg dwuetylotiokarbaminianu sodu (NDDTC).

9. Badania serologiczne

Znaczenie badań serologicznych w typowaniu szczepów *Brucella* oparte jest na różnicach w ich składzie antygenowym. Wszystkie szczepy *Brucella* posiadają antygeny M i A, jednak pomiędzy poszczególnymi typami zachodzą wybitne różnice ilościowe w wyposażeniu antygenowym. W szczepach *B. abortus* stosunek antygenów M do A wynosi 1:20,

120

J. Brill i S. Gołębiowski

T a b e
Typowanie szczepów *Brucella* —

Lp. No	Sygnatura szczepu No of strain	Gatunek zwierzęcia z którego wydzielono szczep Source of isolation (animal)	Materiał z którego wydzielono szczep habitat	Forma szczepu określona testem akriflawi- nowym Phase of strain S or R	Zapotrzebo- wanie CO ₂ CO ₂ requirement	Aktywność biochemiczna Production of	
						H ₂ S	ureaza*
1	Łódź 1	świnia pig	najądrze epidymis	S	—	—	1
2	Łódź 2	"	najądrze epidymis	S	—	—	1
3	Łódź 3	"	wyciek z pochwy vaginal secretion	S	—	—	1
4	Łódź 4	"	wyciek z pochwy vaginal secretion	S	—	—	1
5	300	krowa cow	plód bovine foetus	S	+	+	1
6	789	"	"	S	+	+	30
7	258	"	"	S	+	+	45
8	318	"	"	S	+	+	60
9	721	"	"	S	+	+	45
10	633	"	"	S	+	+	60
11	C-T	"	"	S	+	+	10
12	170	"	"	S	+	+	60

Szczepy *Brucella* kontrolne —

Weybridge							
544			S	—	+	45	
167			S	—	—	180	
114			S	—	—	1	

Cechy szczepów *Brucella* typowych według danych z piśmiennictwa —

	+	+	> 20
	—	—	> 20
	—	***	do 15
	+		

* rozkład mocznika w minutach — urea decomposition after minutes

** aglutynacja słabo zaznaczona — agglutination very weak

Szczepy *Brucella suis* wydzielone ze świń w Polsce

121

la II

Characteristics of isolated *Brucella* strains

Właściwości bakteriostatyczne barwników Bacteriostatic test					Metoda Cruickshanka Cruickshank's method		Aglutynacja z surowicami monospecyficznymi Agglutination test in monospecific sera Titer		Typ określony Type diagnosed
Metoda Picketta — Pickett's method									
fuksyna zasadowa basic fuchsin	tionina thionin	fiolet metylo- wy methyl violet	pyronina pyronin	NDDTC	fuksyna zasadowa basic fuchsin	tionina thionin	anty-abortionus	anty-melitensis	
45	25	30	40	1	—	+	200 + + + +	—	<i>B. suis</i> var. <i>thomseni</i>
45	25	32	37	1	—	+	200 + + + +	—	<i>B. suis</i> var. <i>thomseni</i>
45	25	32	40	1	—	+	200 + + + +	—	<i>B. suis</i> var. <i>thomseni</i>
45	25	32	40	1	—	+	200 + + + +	—	<i>B. suis</i> var. <i>thomseni</i>
25	20	25	30	1	•	•	100 + + + +	—	<i>Brucella</i> . Typ przejściowy
25	35	20	25	1	•	•	400 + + + +	—	<i>B. abortus</i>
25	35	17	20	0	•	•	200 + + + +	—	<i>B. abortus</i>
20	32	15	15	0	•	•	50 + + + + 100 + +	—	<i>B. abortus</i>
20	32	17	15	1	•	•	100 + + + + 200 + +	—	<i>B. abortus</i>
22	32	20	15	0	•	•	200 + + + + 400 + +	—	<i>B. abortus</i>
22	33	20	20	1	•	•	100 + + + + 200 + +	—	<i>B. abortus</i> atypowy
20	25	18	15	0	•	•	400 + + + +	—	<i>B. abortus</i> atypowy

Control strains

25	35	25	30	1	+	—	200 + + + +	—	<i>B. abortus</i>
22	20	20	30	1	+	+	—	+ **	<i>B. melitensis</i>
35	22	30	35	1	—	+	200 + + + + 400 + +	—	<i>B. suis</i>

Characteristics of types according to literature

20—25	35—40	20—25	30—35	2	+	—	+	—	<i>B. abortus</i>
20—25	20—25	20—25	30—35	3	+	+	—	+	<i>B. melitensis</i>
35—40	20—25	30—35	35—40	1	—	+	+	—	<i>B. suis</i>

*** odmiana amerykańska wytwarza H₂S, odmiana duńska nie wytwarza H₂S
 American variant is H₂S positive, Danish type is H₂S negative

• nie badano — not examined

a w szczepach *B. melitensis* 20 : 1. Typ *B. suis* pod względem wyposażenia antygenowego zbliżony jest silnie do typu *B. abortus*, lecz zawiera więcej antygenów *M*. W związku z tym przy pomocy surowic jednoswoistych wyprodukowanych na królikach odróżnić można jedynie szczepu typu *B. melitensis* od szczepów dwóch pozostałych typów.

W naszych badaniach serologicznych stosowaliśmy odczyn zlepnny, używając surowic jednoswoistych produkcji Instytutu Medycyny Pracy i Higieny Wsi. Każdy badany szczep sprawdzany był przy pomocy trzech surowic, to jest jednoswoistej surowicy anty-*abortus*, jednoswoistej anty-*melitensis* i normalnej surowicy króliczej. Surowice jednoswoiste rozcieńczano w probówkach aglutynacyjnych do wysokości miana. Do każdej próbki dodawano na 0,5 ml rozcieńczonej surowicy jedną kroplę (0,05 ml) zawiesiny badanego szczepu w 0,85-procentowym roztworze soli kuchennej; gęstość zawiesiny około 10^{10} bakterii w 1 ml. Zawiesinę przygotowywano z 48-godzinnej hodowli szczepu *Brucella* na skośnym agarze odżywczym o pH 7,0, z dodatkiem 1% glikozy i 5% surowicy końskiej inaktywowanej. Probówki wstrząsano i umieszczano na 24 godziny w termostacie o temperaturze 37°, po czym pozostawiano na dwie godziny w temperaturze pokojowej i odczytywano wynik odczynu zlepnego.

WYNIKI BADAŃ

IZOLACJA SZCZEPÓW *BRUCELLA*

Przedstawiamy szczegółowo jedynie badania tych materiałów, z których udało się nam wyizolować szczepy *Brucella*. Badania zakończone ujemnym wynikiem nie będą omawiane. Szczepy *Brucella* udało się nam wydzielić jedynie dwukrotnie: raz z ropnia najądrza knura a drugi raz z wypływu dróg rodnych maciory.

1. Badanie najądrza knura.

Knur w wieku około 1 roku rasy wielkiej białej angielskiej, za życia bez klinicznych objawów chorobowych. Próba aglutynacji i OWD w kierunku brucelozy ujemna. Sekcyjnie makroskopowo stwierdzono w ogonie najądrza nieotorbiony ropień o białozółtej płynnej treści, wielkości ziarna grochu. Badanie mikroskopowe bezpośrednie (preparat barwiony metodą Kozłowskiego) ujemne. Posiewy, bezpośrednio na podłoże stałe, jak też i pośrednio poprzez podłoże płynne, dały wynik ujemny.

W dniu 26 maja zakażono: jedną świnkę morską treścią ropnia najądrza i jedną świnkę morską rozcierem najądrza. W obu wypadkach badany materiał wstrzykiwano podskórnie. Kontrolne badania serologiczne krwi świnki Nr 1 zakażonej treścią ropnia przeprowadzono kolejno w dniu 20 i 30 czerwca; zachowanie się miana zlepnego surowicy

świnki według kolejności badań przedstawiało się następująco: pierwsze badanie — aglutynacja w rozcieńczeniu 1 : 80 + + + +, drugie badanie 1 : 200 + + + +. W dniu 30 czerwca świnkę Nr 1 uśpiono. Sekcyjnie stwierdzono ostry obrzęk śledziony. Badanie bakteriologiczne narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych świnki dało wynik ujemny.

Rozcierem narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych świnki Nr 1 zakażono natychmiast po sekcji świnkę Nr 1a. Krew tej świnki zbadano serologicznie dnia: 27 lipca, 17 sierpnia, 29 sierpnia, 14 września i 21 września. Miana zlepane surowicy badanej świnki przedstawiają się według kolejności badań następująco: 1) —, 2) —, 3) 1 : 40 + + + +, 1 : 80 + +, 4) 1 : 80 + + + +, 1 : 160 + +, 5) 1 : 80 + + + +.

W dniu 21 września świnkę Nr 1a uśpiono. Sekcyjnie stwierdzono w wątrobie szarobiałe ogniska martwicze wielkości główki szpilki oraz ostry obrzęk śledziony. Wykonano badania bakteriologiczne narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych (metodyka badań patrz rozdział 2). Badania dały wynik ujemny. Natychmiast po sekcji rozcierem narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych świnki Nr 1a zakażono kolejną świnkę Nr 1b. Krew świnki Nr 1b badano serologicznie w dniach 12 października, 24 października i 2 listopada; miana zlepane surowicy przedstawiały się następująco: 1) —, 2) 1 : 160 + + + +, 3) 1 : 640 + + + +.

W dniu 2 listopada świnkę Nr 1b uśpiono. Sekcyjnie stwierdzono bardzo silne powiększenie wszystkich węzłów chłonnych oraz ropień w węzle chłonnym krezkowym. Wykonano badania bakteriologiczne narządów wewnętrznych, węzłów chłonnych oraz ropnia węzła chłonnego, krezkowego. Pałeczki *Brucella* wyhodowano z posiewu bezpośredniego na podłoże stałe z treści ropnia węzła krezkowego (szczep Nr 1) oraz z posiewu pośredniego węzłów chłonnych tuszy (szczep Nr 2) poprzez podłoże płynne; posiew bezpośredni węzłów chłonnych tuszy na podłoże stałe dał wynik ujemny.

Badania kontrolne serologiczne krwi świnki Nr 2 zakażonej rozcierem najadźrza przeprowadzono w dniach: 20 czerwca, 30 czerwca, 7 lipca, 21 lipca, 4 sierpnia, 17 sierpnia i 29 sierpnia; zachowanie się miana zlepnego surowicy świnki Nr 2 według kolejności badań przedstawiało się następująco: 1) —, 2) —, 3) —, 4) —, 5) —, 6) 1 : 40 + + + +, 7) 1 : 40 + + + +, 1 : 80 + +. Świnkę Nr 2 uśpiono w dniu 29 sierpnia. Sekcyjnie stwierdzono w wątrobie liczne rozsiane ogniska martwicze szarobiałe, wielkości główki szpilki. Badanie bakteriologiczne dało wynik ujemny. Od dalszych pasażów materiału na świnkach morskich odstąpiono ze względu na uzyskanie szczepu *Brucella* z ropnia tego samego najadźrza.

2. Badania wycieku z dróg rodnych maciory.

Badanie bezpośrednie mikroskopowe (preparat barwiony metodą Koźłowskiego) ujemne. Posiewy bezpośrednie na podłoże stałe oraz pośred-

nie, poprzez podłoże płynne, dały wynik ujemny. W dniu 26 maja 1955 r. badanym materiałem zakażono świnkę morską Nr 3. Kontrolne badania serologiczne surowicy zakażonej świnki w kierunku brucelozy przeprowadzono w dniach 20 i 30 czerwca, 7 i 21 lipca, 4, 17 i 29 sierpnia. Miana zlepane surowicy przedstawiały się w kolejności badań następująco: 1) 1:5 ++, 2) —, 3) —, 4) —, 5) 1:40 + + + +, 6) 1:60 + + + +, 1:320 ++, 7) 1:160 + + + +. Świnkę Nr 3 uśpiono w dniu 29 sierpnia. Sekcyjnie stwierdzono podostry obrzęk śledziony. Badanie bakteriologiczne węzłów chłonnych i narządów wewnętrznych dało wynik ujemny. Jednocześnie rozcierem narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych świnki Nr 3 zakażono świnkę morską Nr 3a. Krew świnki Nr 3a badano serologicznie w dniach 21 września i 10 października; miana zlepane surowicy przedstawiają się następująco: 1) —, 2) 1:20 + + + +, 1:40 ++. W dniu 11 października świnka Nr 3a padła. Sekcyjnie stwierdzono duże, szarobiałe ogniska martwicze w wątrobie, ostry obrzęk śledziony, silne powiększenie węzłów chłonnych krezkowych. Posiewy bezpośrednie narządów wewnętrznych i węzłów chłonnych dały wynik ujemny. Z posiewów pośrednich poprzez podłoże płynne uzyskano wzrost pałeczek *Brucella* z rozcieru wątroby i śledziony (szczep Nr 3) oraz z węzłów chłonnych (szczep Nr 4).

CHARAKTERYSTYKA WYDZIELONYCH SZCZEPÓW *BRUCELLA*

Cechy charakterystyczne czterech, wydzielonych przez nas od dwóch świń, szczepów *Brucella* zebrane są w tabeli II. Szczepy te weszły w skład kolekcji drobnoustrojów Muzeum Polskiej Akademii Nauk, odpowiednie numery muzealne odnotowane są w notce na stronie 115. W tabeli II zamieściliśmy jednocześnie dla porównania własności 8 szczepów *Brucella* wydzielonych przez Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Łodzi z płodów bydła. Wśród tych szczepów szczep oznaczony Nr C-T pochodził właśnie z tego samego gospodarstwa, w którym stwierdziliśmy brucelozę świń.

Jako kontrolę prawidłowego przebiegu badań przy określaniu cech poszczególnych szczepów służyły nam szczepy typowe *Brucella abortus* Nr 24 (szczep Nr 584/54 Kolekcji drobnoustrojów PAN), *Brucella melitensis* Nr 167 i *Brucella suis* Nr 114 (otrzymane z Muzeum Instytutu Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie) oraz szczep *Brucella abortus* 544 (z Vet. Labor. Weybridge, Kolekcja drobnoustrojów PAN 673/56, szczep *Brucella melitensis* C (ze Statens Serum Institute, Kopenhaga, Nr Kolekcji Drobnoustrojów PAN 174/47) i *Brucella melitensis* M16 (z Vet. Labor. Weybridge, Kolekcja drobnoustrojów PAN 675/56).

W oparciu o dokonane badania wydzielone ze świń 4 szczepy *Brucella* określiliśmy ostatecznie jako typowe *Brucella suis* var. *thomseni*. Wy-

dzielone przez nas szczepy zostały kontrolnie przebadane przez prof. dr A. Thomsena ze Statens Veterinere Serumlaboratorium, Kopenhaga oraz przez Instytut Medycyny Pracy i Higieny Wsi w Lublinie. Oba zakłady potwierdziły nasze oznaczenia.

Odnosnie pozostałych 8 badanych szczepów wydzielonych przez WZHW w Łodzi z bydła, to przed szczegółowym omówieniem ich cech uważamy za stosowne omówić niezgodności jakie zaistniały między wynikami naszych badań przy określaniu właściwości bakteriostatycznych barwików metodą Picketta, przy zastosowaniu tabletek z barwikami produkcji Roskilde Medical Company Ltd. Denmark a tabelą Bendtsena, opracowaną przez autora w oparciu o tabletki barwikowe tej samej firmy. Rażąca niezgodność stwierdziliśmy w zachowaniu się szczepów w stosunku do NDDTC; według Bendtsena typowe szczepy *B. melitensis* powinny dać w obecności NDDTC 3 strefy zahamowania wzrostu, a *B. abortus* 2 strefy, gdy tymczasem w naszych badaniach szczepy typowe i szczepy wydzielone z bydła o cechach pozostałych odpowiadających *B. abortus* dały w tym teście tylko jedną strefę zahamowania wzrostu lub w ogóle nie stwierdzono działania hamującego NDDTC na wzrost niektórych szczepów. Już po dokonaniu tych badań w rozmowie osobistej z profesorem Renoux mogłem wyjaśnić, że stosowanie NDDTC w postaci tabletek diagnostycznych jest obecnie nierealne, albowiem produkt ten — jak się okazało — ulega szybko rozkładowi.

Duże różnice w zachowaniu się szczepów stwierdziliśmy w naszych badaniach w porównaniu z wynikami podanymi przez Bendtsena w odniesieniu do tabletek barwikowych z fioletem metylowym i pyroniną. Należy jednak podkreślić, że różnice te wystąpiły jedynie przy określaniu 8 szczepów wydzielonych z bydła, zachowanie się szczepów typowych muzealnych w stosunku do tych dwóch barwików odpowiadało natomiast całkowicie danym zawartym w tabeli Bendtsena. Może to przemawiać z jednej strony za słusznością wyników Bendtsena, z drugiej za pewną odmiennością w zachowaniu się szczepów *B. abortus* świeżo wydzielonych z materiałów terenowych w stosunku do tych dwóch barwików.

Prawie całkowitą zgodność naszych wyników z wynikami Bendtsena stwierdza się w działaniu fuksyny i tioniny na szczepy typowe, jak i na szczepy wydzielone z materiałów terenowych. Z tych też względów przy określaniu typu 8 badanych szczepów wydzielonych od bydła, jeśli chodzi o właściwości bakteriostatyczne barwików, bierzemy pod uwagę tylko zachowanie się szczepów w stosunku do fuksyny zasadowej i tioniny, pomijając testy z fioletem metylowym, pyroniną i NDDTC.

Uwzględniając powyższe zastrzeżenia należy uznać szczepy Nr 789, 258, 318, 721, 633 za *B. abortus*-typowe, szczepy Nr C-T, 170 za *B. abortus*-

tus-atypowe. Szczep Nr C-T różni się od szczepu typowego *B. abortus* większą aktywnością ureazy, a szczep Nr 170 mniejszą wrażliwością na tioninę. Na specjalne omówienie zasługuje szczep nr 300. Budowa antygenowa tego szczepu odpowiada budowie antygenowej *B. abortus* lub *B. suis*. Aktywność ureazy, zachowanie się w stosunku do tioniny odpowiadają szczepom *B. suis*, zapotrzebowanie CO₂ i zachowanie się w stosunku do fuksyny zasadowej odpowiadają szczepom *B. abortus*. Wytwarzanie H₂S może przemawiać bądź za przynależnością do typu *B. abortus*, bądź *B. suis* (odmiana amerykańska). Tak więc na podstawie przytoczonych wyników badań szczep ten nie może być zakwalifikowany ani do typu *B. abortus*, ani do typu *B. suis*. Jest to szczep o cechach wybitnie przejściowych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wydzielenie szczepów *Brucella* ze świń po raz pierwszy na terenie Polski wymaga ścisłego ich określenia. Ze względów epizootologicznych oraz epidemiologicznych nie jest rzeczą obojętną, czy wydzielony szczep jest typem *B. abortus*, *B. suis* czy też *B. melitensis*. Wiadomo bowiem, że jakkolwiek wszystkie typy *Brucella* są chorobotwórcze dla ludzi i bez mała wszystkich gatunków zwierząt domowych, niemniej jednak, jeśli chodzi o człowieka, specjalną chorobotwórczością cechują się w pierwszym rzędzie *B. melitensis* i *B. suis*, odmiana amerykańska. W szczególności szczepy *B. melitensis*, pochodzące bezpośrednio od kóz i owiec, są wybitnie chorobotwórcze dla człowieka, gdy tymczasem szczepy typowe *B. abortus*, pochodzące od bydła cechy tej — jak to podaje Stabelforth (1953) — są raczej pozbawione.

B. suis odmiana amerykańska należy również do szczepów silnie chorobotwórczych dla człowieka, gdy tymczasem *B. suis* odmiana duńska, różniąca się od pierwszej tylko niezdolnością do wytwarzania H₂S, uważana jest raczej tylko za wyjątkowo chorobotwórczą dla człowieka (Huddleson 1943, Parnas i Tuszkiewicz 1956).

Przytoczone powyżej różnice chorobotwórczości poszczególnych typów pałeczek *Brucella* dla człowieka już same przez się stanowią pełne uzasadnienie dla przeprowadzenia szczegółowych badań nad typowaniem wydzielonych przez nas ze świń szczepów. Prócz powyżej podanego aspektu uzasadniającego potrzebę typowania pałeczek *Brucella*, łączy się jeszcze z typowaniem zagadnienie zmienności drobnoustrojów.

Gatunek *Brucella* obejmuje nie tylko 3 podstawowe typy, lecz także szereg szczepów atypowych lub przejściowych. Różnice pomiędzy szczepami typowymi a atypowymi sprowadzają się do różnic w spektrum aktywności biochemicznej, względnie do różnic struktury antygenowej. Pomijam w tym miejscu zagadnienie, czy mówiąc o typach *Brucella* nie

powinniśmy ewentualnie — wzorem profesora Parnasa — mówić jedynie o odmianach zamiast o typach, mam jednakowoż wrażenie, że dyskusyjnie znacznie bardziej zrozumiała staje się sprawa typowania bruceli, jeżeli staniemy na stanowisku reprezentowanym przez bez mała wszystkich badaczy tej dziedziny mikrobiologii, którzy rozróżniają trzy zasadnicze typy bruceli oraz ich odmiany czyli warianty.

Wspomniane różnice w niczym nie wykluczają morfologicznej, osobniczej zmienności oraz zmienności wzrostu na podłożach.

Od czasu klasycznych badań Pasteura nad zmiennością drobnoustrojów, uzyskiwaną przez pasaż badanego szczepu w różnych warunkach środowiskowych, wiemy, że zmienność drobnoustrojów można osiągnąć stosunkowo łatwo. Polipatogenność pałeczek *Brucella* stwarza dla tego drobnoustroju wyjątkowo dogodne warunki bytowania w różnych środowiskach, co zapewne zależne jest od dużej adaptacyjności enzymatycznej tego gatunku. Różnorodność środowiska, w którym *Brucella* mogą bytować, musi też odwrotnie wywierać wpływ na stałość lub zmienność przynajmniej niektórych cech drobnoustrojów. Prace badaczy angielskich podkreślają wyjątkową anomalię, jaką zaobserwowano wśród typowych szczepów *B. melitensis* wydzielonych z pokaźnej liczby krów na przestrzeni ostatnich lat w Anglii. Ludność miejscowa, która piła mleko od krów zakażonych *B. melitensis*, nie chorowała. Odnosi się wrażenie, że pasaż przez krowy wyhodowanych w Anglii szczepów *B. melitensis* spowodowały obniżenie charakterystycznej dla typu *B. melitensis* zjadliwości w stosunku do organizmu człowieka.

Uzyskiwanie zmienności typu przez pasaż poprzez organizm gospodarza „niewłaściwego“ było przedmiotem badań wielu autorów. Washko, Bay, Donham, Hutchings (1951b) z 22 świń zakażonych dla celów doświadczalnych szczepami *B. abortus* wydzielili w 4 przypadkach szczepy *B. suis*. Gilman, Milks i Birch (1934) próbowali zmienić charakterystyczne cechy szczepów *B. abortus* przez pasaż na świnia. Uzyskane wyniki były jednak ujemne, pomimo że pasażowano szczep *B. abortus* kolejno przez 6 świń.

Washko i współpracownicy (1951a) badali właściwości chorobotwórcze szczepów *B. abortus* wydzielonych ze świń przez McCullocha i doszli do wniosku, że nie różnią się one pod względem chorobotwórczości dla świń od szczepów *B. abortus* wydzielonych z bydła.

Cameron i Meyer (1952) pasażowali seryjnie szczep *Brucella S 19* przez 21 świń, czas przebywania szczepu w organizmie świń wynosił 406 dni. Szczep wyhodowany w końcowej fazie doświadczenia nie wykazał odchyłań w porównaniu ze szczepem wyjściowym w teście tolerancji względem barwików oraz w teście zjadliwości, mierzonym uszkodzeniami śledziony zakażonych świnek morskich.

Ten krótki przegląd prób sterowanej zmienności cech charakteryzujących poszczególne typy *Brucella* drogą eksperymentu biologicznego zdaje się wskazywać na to, że niektóre szczepy poszczególnych typów mogą wykazywać zmienność przynajmniej pewnych cech. Poza tym niektóre dane wskazują na to, że każdy z typów *Brucella*, natrafiając na wrażliwego gospodarza spośród różnych gatunków zwierząt, może stać się dla niego pasożytem nie zmieniając przy tym charakterystycznych cech wyjściowych. Zagadnienie zmienności pałeczek *Brucella* drogą biologicznego eksperymentu przez współhodowlę *in vivo* w organizmie kury zakażonej *Salmonella pullorum*, było przedmiotem badań i publikacji Brilla (Brill i Frendzel 1936). W wyniku tych badań uzyskano z organizmu kur współzakażonych szczepami *Brucella* i szczepami *S. pullorum* szczepy *Brucella* zlepiające się surowicą swoistą anty-*pullorum*.

Parnas (1956) donosi o możliwościach wywołania zmienności niektórych cech charakterystycznych dla typu przez współhodowlę dwóch różnych typów pałeczek *Brucella in vitro* (hybrydyzacja wegetatywna). Stałość cech nabytych w ten sposób nie została przez autora sprawdzona ze względu na zaginięcie szczepu.

Badane przez nas szczepy *Brucella*, określone jako *Brucella suis* — Łódź 1, 2, 3, 4, wydzielone ze świń okazały się szczepami typowymi *B. suis*, odmiana duńska. Stwierdzenie tego faktu ma duże znaczenie epidemiologiczne, ponieważ odmiana duńska w przeciwieństwie do odmiany amerykańskiej należy do szczepów mało chorobotwórczych dla ludzi. Tym też należy przypuszczalnie tłumaczyć fakt, że pomimo niezwykle dużego rozprzestrzenienia się brucelozy wśród trzody chlewnej PGR-Turzynów, a tym samym dużego zagęszczenia zarazka w środowisku w związku z częstymi ronieniami i nie przestrzeganiem przez personel obsługujący przepisów sanitarno-higienicznych, obsługa chlewni w liczbie 3 osób pozostała — jak mogliśmy stwierdzić na podstawie wywiadu i badań serologicznych — w pełni zdrowia.

Szczep *Brucella* wydzielony z płodu bydłęcego a pochodzący od krowy z tego samego gospodarstwa, w którym stwierdzono u świń szczepy *B. suis*, określiliśmy jako *B. abortus* atypowy (Nr C-T). Wśród 6 osób personelu obsługującego bydło w PGR Turzynów stwierdziliśmy 2 przypadki brucelozy, co może być związane z większą zjadliwością szczepu *Brucella* dla ludzi w ogólności lub ze zwiększonymi możliwościami zakażenia się ludzi przy kontakcie z bydłem. Jeśli bowiem chodzi o obsługę chlewni, to zakażenie ludzi mogło dojść do skutku przez kontakt lub też drogą aerogenną podczas oczyszczania pomieszczeń, natomiast w przypadku obsługi obory należy wziąć pod uwagę — w większym jeszcze stopniu — trzeci sposób zakażenia się pałeczkami *Brucella*, mia-

nowicie drogą pokarmową przez picie surowego mleka i stosunkowo znacznie większy kontakt człowieka z bydłem przy porodach. Nie bez wpływu będzie także w takich wypadkach ilość zarazka z jaką się styka człowiek przy porodzie lub w wypadku poronienia krowy zakażonej.

Oдноśnie zmienności pałeczek *Brucella* należy podkreślić następujące obserwacje. W naszych dodatkowych badaniach natrafiliśmy aż na trzy szczepy, które bezwzględnie przemawiają za występowaniem zjawiska zmienności aktywności biochemicznej i wrażliwości na środki bakteriostatyczne wśród szczepów należących do rodzaju *Brucella*. Szczep Nr 300 jest tego przekonywającym dowodem. Szczep ten w oparciu o przeprowadzone przez nas badania (stosowana metodyka stanowi obecnie bez mała wszędzie podstawę do określania typu) nie może być zakwalifikowany ani do typu *B. abortus*, ani do typu *B. suis*. Jest to szczep o cechach wybitnie odbiegających od cech typowych, a może on się „wywodzić” zarówno z typowego szczepu *B. abortus*, jak i z typowego szczepu *B. suis*. Szczep ten został przez nas wyizolowany z poronionego płodu bydłęcego.

Na specjalne omówienie zasługuje metodyka i technika izolacji szczepów *B. suis*. Należy podkreślić, że wydzielenie „primokultury” *B. suis* z materiału zakażonego jest, jak wynika z naszych badań, związane z dużymi trudnościami. Zastosowanie do badań bakteriologicznych jedynie tylko podłoży stałych i płynnych, specjalnie przydatnych do wzrostu pałeczek *Brucella*, w naszych badaniach pomimo przeprowadzenia setek posiewów nie dało w żadnym przypadku dodatnich wyników.

Przypuszczalnie jest to związane ze zbyt małą ilością zarazków w badanym materiale. Dopiero dzięki użyciu do badań świnek morskich, a zatem próby biologicznej, udało nam się wydzielić szczepy *B. suis*. Jednak i w eksperymencie biologicznym natrafia się na trudności. Hodowle założone na pożywkach wybiórczych stałych i płynnych z zakażonych organów świnek morskich mogą być ujemne pomimo wysokiego miana zleponego surowicy świnki (miano 1 : 200) oraz zmian sekcyjnych świadczących o zakażeniu (ostry obrzęk śledziony). Dlatego też dla uzyskania dodatnich wyników konieczne jest kolejne zakażenie następnych świnek w pasażu do pewnego stopnia ślepym, aż do uzyskania w hodowli poszukiwanego szczepu *Brucella*. W naszym przypadku szczepy *B. suis* oznaczone numerami 1 i 2 wydzieliliśmy dopiero po trzecim pasażu „ślepych” na świnkach morskich, a szczepy numer 3 i 4 po drugim. Z tego rodzaju trudnościami spotykali się również i inni badacze, np. Tiewosow i Annagiew (1956) oraz Kołomakin (1956). Donoszą oni o dodatnich mianach (1 : 160) zlepnych u zakażonych świnek, z których pomimo to nie uzyskano szczepów *Brucella*.

Poza tym należy uznać wyższość pożywek wybiórczych płynnych nad stałymi przy zakładaniu hodowli z materiału zakażonego, nie zanieczyszczonego postronną florą bakteryjną. Z takim to właśnie materiałem mamy przeważnie do czynienia przy badaniu narządów świnek morskich użytych do prób biologicznych. Wysiew na podłoże płynne umożliwia namnożenie się pałeczek *Brucella*, których ilość w tkankach zwierząt zakażonych — jak to często bywa — jest nieznaczna. W naszych badaniach na 4 wyizolowane szczepy *Brucella* 3 wyhodowano jedynie dzięki stosowaniu podłoża płynnych (posiewy bezpośrednio na podłoża stałe były ujemne), a zaledwie 1 wyhodowano z wysiewu bezpośredniego na podłoże stałe i to z ogniska, w którym nagromadzenie zarazka musiało być siłą rzeczy duże, a mianowicie z ropnia węzła krezkowego.

Odnosnie czasu obserwacji świnek morskich zakażonych materiałem badanym na obecność *Brucella*, to w oparciu o nasze doświadczenia, czas ten powinien być przedłużony do 12 tygodni. Obserwacja 6-tygodniowa, powszechnie zalecana, nie pozwala na uchwycenie wszystkich zwierząt, które by mogły ewentualnie zareagować dodatnim mianem serologicznym wskutek zakażenia. Uśpienie świnki morskiej serologicznie ujemnej już po 6 tygodniach obserwacji i przeprowadzeniu w tym czasie badań bakteriologicznych daje mniej szans wydzielenia zarazka niż przeprowadzenie badań bakteriologicznych po wystąpieniu pozytywnego miana zlepnego. W naszych badaniach świnka morska Nr 1a zareagowała serologicznie dodatnio między siódmym a dziewiątym tygodniem od chwili zakażenia, świnka morska Nr 3 między ósmym a dziesiątym tygodniem, a świnka Nr 2 między dziesiątym a dwunastym tygodniem.

* * *

1. Jako przyczynę ronienia macior ustalono zakażenie wywołane przez *Brucella suis* var. *thomseni* (*B. suis* odmiana duńska).

2. Jeden szczep wydzielono z ropnia najądrza knura (szczep *B. suis* Łódź 1), drugi z wycieku organów rodnych maciory (szczep *B. suis* Łódź 4)*. Wydzielone szczepy *B. suis* posiadały wszystkie cechy typowe dla *B. suis* odmiana duńska.

3. Szczepy *B. suis* zostały wydzielone ze świń po raz pierwszy w Polsce.

4. Droga posiewów bezpośrednich na wybiórcze podłoża stałe i płynne nie udało się wydzielić szczepów *Brucella*, pomimo licznych bardzo prób. Szczepy *Brucella* wydzielono dopiero dzięki zastosowaniu „ślepych“

* Szczepy znajdują się w Kolekcji Drobnoustrojów Polskiej Akademii Nauk pod sygnaturami: 730/56/1, 731/56/4.

pasaży badanych materiałów przez świnki morskie (dwa względnie trzy pasażę).

5. Zalecany powszechnie 6-tygodniowy czas obserwacji zakażonych eksperymentalnie świnek morskich okazał się w stosunku do naszych szczepów niewystarczający. Świnki morskie zakażone badanym materiałem zareagowały serologicznie dopiero między 7 a 12 tygodniem od chwili zakażenia.

6. Szczep *Brucella* wydzielony z płodu bydłęcego z tego samego gospodarstwa został określony przez nas jako *Brucella abortus* „atypowy“.

7. Przebadane porównawczo szczepki *Brucella* wydzielone z płodów bydłych z województwa łódzkiego w 5 przypadkach wykazały cechy charakterystyczne dla typu *B. abortus*, w 1 przypadku cechy atypowe *B. abortus* a w 1 przypadku cechy *B. abortus* typ przejściowy.

8. Test bakteriostatyczny barwikowy według metody Picketta z zastosowaniem tabletek produkcji Roskilde Medical Company Ltd. Denmark okazał się w użyciu praktyczniejszy od innych testów bakteriostatycznych barwikowych.

9. Test Renoux z NDDTC (sodium diethylthiocarbamate) w postaci tabletek okazał się nie przydatny, przypuszczalnie wskutek rozkładu preparatu w składowych tabletkach.

LITERATURA

- Bendtsen H. 1954: On type differentiation of *Brucella* Bacteria. *Nord. Vet. Med.* 6: 355.
- Brill J., Freundzel J. 1936: Paraaglutynacja doświadczalna dwóch gatunków drobnoustrojów hodowanych razem in vivo w kurze. *Med. Dośw. i Społ. T. XXI*: 418.
- Brill J., Gołębiowski St. 1956: Bruceloza świń. *Med. Dośw. i Mikr.* 2: 244.
- Brill J., Gołębiowski St. 1957: Kompleksowe środowiskowe badania brucelozy. *Rocz. Nauk Roln. T. 68—E—1*: 93.
- Cameron H., Meyer M. 1952: An Attempt to Alter the Characteristics of *Brucella Abortus* by Serial Passage Through Swine. *The Cornell Vet.* 1: 42.
- Gilman H., Milks C., Birch R. 1934: Passage of Bovine *Brucella* through Swine. *J. Inf. Dis.* 54: 171.
- Huddleson I. F. 1943: Brucellosis in Man and Animals, New York. The Commonwealth Fund.
- Kołomakin G. A. 1956: Rol kleszczowej siemejstwa Ixodidae w epizootologii brucellozy. *Wiet.* 6: 33.
- Parnas J., Tuszkiewicz A. 1956: Bruceloza. PZWL. Warszawa.
- Parnas J. 1956: Próby doświadczalnego przeobrażania cech odmian pałeczek *Brucella*. *Acta Micr. Polonica. Vol. V*: 45.
- Rozanow H. 1952: Mikrobiologiczka diagnostyka zakażeń s. ch. z. Sielchozgiz, Moskwa.
- Stableforth A. W. 1953: World Health Org., Monograph Series. Nr. 19. Advances in the control of zoonoses. Geneva.

- Tiewosow A. M., Annagiew A. A. 1956: Ku woprosu o prirodnyh oczagach brucelleza. *Wiet.*, 6: 33.
- Thomsen A. 1934: Brucella infection in swine. Kopenhagen.
- Washko F., Hutchings L., Bay W., Donham C. 1951a: Studies on the Pathogenicity of *Brucella suis* for Cattle — II. *Amer. J. Vet. Res.*, 12: 165.
- Washko F., Bay W. W., Donham C. R., Hutchings L. 1951b: Studies of the Pathogenicity of *Brucella abortus* for Swine — I. *Amer. J. Vet. Res.*, 12: 320.
- Harnach R. 1957: Epizootologická komplexnost brucelózy. Pokroky vo Výskume Brucelózy; *Vyd. Slov. Akad. Vied. Bratislava*: 65.
- Thomsen A. 1957: Brucellainfektion beim Schwein und ihre Beziehung zur Brucellainfektion beim Haasen. Pokroky vo Výskume Brucelózy; *Vyd. Slov. Akad. Vied. Bratislava*: 184.
- Niznansky F. i współprac. 1957: Príspevok k epizootologii brucelózy poľných zajačov na Slovensku. Pokroky ku Výskume Brucelózy; *Vyd. Slov. Akad. Vied. Bratislava*: 199.
- Katalog Drobnoustrojów. 1956: Wyd. PAN. Komisja Naukowa dla Spraw Kolekcji Drobnoustrojów. Warszawa.

J. Brill and S. Gołębowski

THE FIRST ISOLATION OF *BRUCELLA SUI*S FROM PIGS IN POLAND

Summary

Many cases of abortion in sows observed in one of Government Estate were shown to be due to infection with *Brucella suis* var. *thomseni*.

Two strains were isolated — one from the abscess of a epidymis of a boar, second from the secretion of female genital tract.

These strains, were diagnosed as typical *B. suis* strains.

It is the first case of isolation of *B. suis* from pigs in Poland*.

It was found that for the isolation of *B. suis* the method of choice is the passage of infectious material through guinea-pigs. In most cases at least three „blind“ passages are needed before the isolation on nutrient media is possible.

The period of observation of infected guinea-pigs should be prolonged up to 12 weeks; the formation of specific antibodies very often is observed not earlier, then 7-12 weeks after the infection.

Routinely used selective liquid and solid media were shown to be not suitable for isolation of *B. suis* directly from infected animals.

In the district, where above mentioned strains have been isolated, number of animals were examined. One atypical strain of *B. abortus* was isolated from aborted bovine foetus. Among seven strains isolated at the same time from bovine foetuses in Łódź-Voievodztwo five were diagnosed as typical *B. abortus*, one as atypical *B. abortus* and one as intermedium *B. abortus*.

It was shown that in differentiation of *Brucella* species the most useful is Pickett's test (bacteriostatic action of dyes) performed with dye — tablets produced by Roskilde Medical Co LTD.

The results obtained with NDDTC (Renoux's test) were inconclusive, probably due to the decomposition of the active substance during storage.

* The strains mentioned are included in the collection of Microorganisms of Polish Academy of Science under the numbers: 730/56/1 and 731/56/4.